

Morfología del tubo digestivo en larvas de *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor* (Anura, Microhylidae) del Noroeste argentino

Zandra E. ULLOA KREISEL

Cátedra de Embriología y Anatomía Comparadas de la Fac. de Cs. Naturales e Inst. M. Lillo, Univ. Nac. de Tucumán, M. Lillo 251, 3^{er} Piso, San Miguel de Tucumán (4000), Argentina
<zulloa@csnat.unt.edu.ar>

Morphology of the digestive tube in larvae of two species of Microhylidae from the Argentine Northwest, *Dermatonotus muelleri* and *Elachistocleis bicolor*, is described. The digestive tube length is standard, with two coiled nuclei in the midgut. Histologically the foregut presents a dorsal fold in the esophagus with many ciliated cells in the mucosae. The gastric region is characterized by a "manicotto glandulare" with a thick glandular layer. The epithelium of the midgut and posterior intestine is simple, showing columnar cells with brush border in the former and cylindrical cells and calciform cells in the latter. The anatomical characteristics of the coiling of the midgut have not been described for other larvae of neotropical Microhylidae, but the dorsal fold in the esophagus is common to other American microhylid genera.

INTRODUCCIÓN

Las larvas de Microhylidae de vida libre se caracterizan por tener labios flexibles; el inferior puede ser protusible a modo de cuchara o en forma de embudo, en otros casos. La microfagia es el hábito alimenticio más común y las estructuras bucofaringeas colaboran en la captura de las partículas alimenticias. ORTON (1953) clasifica a las larvas de Microhylidae como larvas de tipo II, las cuales presentan, entre otros caracteres, ausencia de piezas bucales queratinizadas, una cámara opercular simple y un espiráculo medio ventral. ALDIG & JOHNSTON (1989) clasifican a algunas larvas de Microhylidae como suspensivas de tipo I, con pliegues labiales semiesféricos sobre la boca, cuerpo muy deprimido y circular en vista dorsal.

Entre las descripciones de las estructuras orales internas en larvas de Microhylidae están las realizadas por SAVAGE (1952) quien describió la anatomía de las estructuras bucofaringeas en larvas de cuatro especies de Microhylidae asiáticas (*Calluella guttulata*, *Glyphoglossus molossus*, *Chaperina fusca* y *Kaloula pulchra*), WASSERBURG (1980) en tres especies del género

Microhyla (*M. berdmorei*, *M. heymonsi* y *M. ornata*), WASSERSUG & PYBURN (1987) en *Otophryne robusta* que es un Microhylidae neotropical, entre otros autores. GRADWELL (1974) observó las estructuras branquiales en *Phrynomantis annectens*.

La información referida al tubo digestivo en los Microhylidae neotropicales es inexistente. NELSON & CUELLAR (1968) realizaron estudios comparativos de la cavidad oral y del tubo digestivo en 4 especies de dos géneros de anuros americanos neárticos, *Hypopachus barberi*, *H. variolosus*, *Gastrophryne olivacea* y *G. usta*.

Existen dos especies de Microhylidae en el Noroeste argentino que son *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor*. La morfología externa de la larva de *D. muelleri* fue descrita por CEI (1980) y ALTIG & JONHSTON (1986). LAVILLA (1992) re-describió la morfología externa de la larva y analizó el condrocraáneo y el esqueleto visceral. De acuerdo con estas descripciones la larva presenta un cuerpo en vista dorsal cuadrangular y en vista lateral triangular, ojos pequeños dirigidos dorsolateralmente, una boca ventral, sin papilas marginales ni pico córneo, un espiráculo medial posterior cercano al tubo proctodeal, una cola triangular, gruesa y corta, con aletas dorsal y ventral delgadas.

Elachistocleis bicolor fue citada para otras zonas neotropicales por CEI (1980) y GUDYNAS (1983). WILLIAMS & GUDYNAS (1987) describieron la larva: presenta un cuerpo globoso, ojos pequeños que se ven dorsalmente, una boca pequeña, de ubicación anteroventral, con pliegues a modo de faldas y sin estructuras queratinizadas ni papilas marginales, un espiráculo terminal, inmediatamente por delante y a la izquierda de la abertura anal, una cola musculosa con aletas bajas que alcanzan el cuerpo.

Las estructuras orales internas en larvas de ambas especies fueron caracterizadas por ECHEVERRÍA & LAVILLA (2000).

LAVILLA & LANGONE (1991, 1995) describieron cambios ontogenéticos en la orientación del espiráculo y tubo proctodeal, así como las estructuras del condrocraáneo en las larvas de *E. bicolor*.

En base a los antecedentes sobre el grupo de Microhylidae y la necesidad de contar con descripciones que posibiliten comparaciones intra e interfamiliares, se ha planteado el objetivo de este trabajo en la descripción del aparato digestivo post-faríngeo en las larvas suspensivas micrófagas de Microhylidae que se encuentran en el Noroeste argentino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron larvas de *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor* entre los estadios equivalentes a los 30-37 de la tabla de desarrollo normal de GOSNER (1960), provenientes de colectas realizadas en la localidad de Las Lajitas, Departamento Anta, Salta, Argentina, en el mes de enero de 1998 y de la colección del Museo de Ciencias Naturales de Salta MCN 123, respectivamente.

El material se fijó en una solución de formaldehído al 10%, y se postfijo en líquido de Bouin. Las observaciones macroscópicas se hicieron por medio de disecciones bajo lupa, efectuando un corte en la línea media ventral para exponer el tubo digestivo.

Tab. 1. - Morfometría del tubo digestivo en larvas de Microhylidae suspensívoras micrófagas (*Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor*). % sobre la longitud total del tubo digestivo.

	<i>Dermatonotus muelleri</i>	<i>Elachistocleis bicolor</i>
Tubo digestivo	(n = 7)	(n = 7)
Longitud del tubo digestivo	8 ± 0.21 cm ≅ 10 veces la longitud del cuerpo del renacuajo	4.45 ± 0.15 cm ≅ 6 veces la longitud del cuerpo del renacuajo
Esófago	0.3 ± 0.01 cm = 3.750 %	0.1 ± 0.01 cm = 2.25 %
Manicotto glandulare	0.25 ± 0.01 cm = 3.12 %	0.15 ± 0.01 cm = 3.37 %
Intestino medio	5.95 ± 0.15 cm = 74.37 %	3.5 ± 0.11 cm = 78.65 %
Intestino posterior	1.5 ± 0.04 cm = 18.75 %	0.7 ± 0.02 cm = 15.73 %

Los estudios morfométricos se realizaron en larvas equivalentes al estadio 35 de GOSNER (1960), se tomaron la longitud del cuerpo de cada renacuajo correspondiente a la medida entre el hocico y el vientre para comparar con el largo total del tubo digestivo y se midieron con un calibre Vernier cada porción del tubo digestivo. Las mediciones del intestino medio se realizaron sobre un papel milimetrado.

Para los estudios histológicos se extrajeron las distintas regiones del tubo digestivo, el material se deshidrató y se utilizó xilol como intermediario para su inclusión en paraplast. Se efectuaron cortes seriados de 6 µm de espesor con micrótomos de deslizamiento. La técnica de coloración utilizada fue Hematoxilina-Eosina (H&E). Las observaciones se efectuaron en microscopio estereoscópico Leica MPS30 y documentadas en cámara fotográfica fotoautomat MPS30.

RESULTADOS

DERMATONOTUS MUELLERI

Descripción anatómica

La longitud del tubo digestivo es aproximadamente diez veces la longitud del cuerpo (hocico-vientre) (tab. 1).

En *D. muelleri* el esófago se ubica en la línea media del cuerpo en la parte anterior de la cavidad abdominal, es relativamente corto y comprende un 3.75 % de la longitud total del tubo digestivo.

El manicotto glandulare está ubicado en la región dorsal de la cavidad, con paredes más gruesas y blanquecinas, y representa un 3.12 % de la longitud total del tubo digestivo (fig. 1A, C).

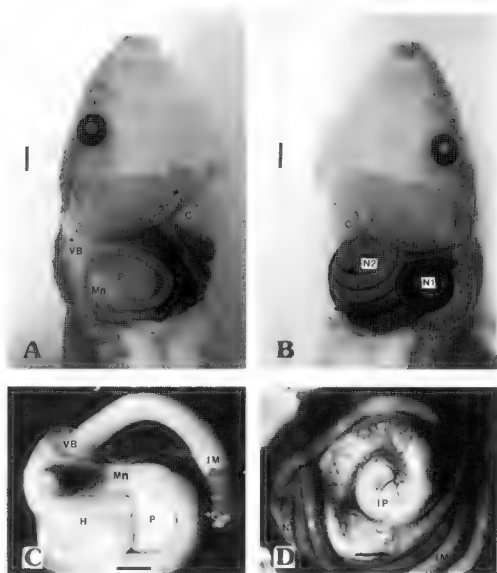


Fig. 1. - Tubo digestivo en *Dermatonotus muelleri*. (A) Vista lateral derecha de la cavidad abdominal. (B) Vista lateral izquierda de la cavidad abdominal. (C) Vista dorsal del intestino anterior. (D) Vista dorsal del intestino posterior. C, corazón; CH, conducto hepático; F, esófago; H, hígado; IM, intestino medio; IP, intestino posterior; N, núcleo de enrollamiento; Mn, manicomio glandular; P, páncreas; VB, vesícula biliar. Escala: 1 mm

La primera porción del intestino medio (duodeno) se curva alrededor del páncreas en el lado derecho. El páncreas es mediano, de forma circular y color blanquecino, y el hígado está ubicada algo anterior al páncreas. El *intestino* medio es largo (74.37 % de la longitud total del tubo digestivo) y ocupa gran parte de la cavidad abdominal. Se caracteriza por presentar dos núcleos de enrollamiento. El primero es más corto, teniendo 1.5 vueltas y está ubicado lateralmente en el lado izquierdo. El segundo es más largo, con 4.5 vueltas, ocupa la parte central de la cavidad y su eje está orientado en sentido dorso-ventral, ambos forman una espiral doble al enrollarse (fig. 1A-B).

El *intestino* posterior es más corto, presenta mayor diámetro y se enrolla internamente con posición más dorsal que el intestino medio. Representa un 18.75 % de la longitud total del tubo digestivo (fig. 1D).

Observaciones histológicas

Esófago

Presenta un septo longitudinal en la pared dorsal que abarca el primer tramo del esófago, tiene una submucosa con abundante tejido conectivo laxo y un epitelio con células cilíndricas ciliadas. A ambos lados del septo, en la base del mismo, se encuentran células cilíndricas bajas secretoras de mucus.

El resto de la mucosa del esófago presenta una capa simple de células cilíndricas ciliadas y escasas células calciformes en la pared ventral. La submucosa es una capa delgada de tejido conectivo laxo y la capa muscular es muy delgada con fibras circulares (fig. 2A-B).

En la porción posterior se forman varios plegamientos longitudinales con concentraciones de células cilíndricas secretoras de mucus en forma de penachos. La capa muscular es más gruesa con fibras circulares y externamente fibras longitudinales junto a la capa serosa (fig. 2C).

“Manicotto”

La mucosa tiene células cilíndricas secretoras de mucus con núcleo grande medio basal basófilo y citoplasma apical eosinófilo homogéneo. Se alterna con escasas zonas de células cilíndricas ciliadas. La mucosa tiene un espesor de 15 μm .

El epitelio con células cilíndricas bajas de núcleo redondo basófilo puede estar interrumpido por la formación de criptas en algunas zonas. Las glándulas se disponen longitudinalmente con células cúbicas de núcleo redondo basófilo y citoplasma homogéneo eosinófilo. Esta capa tiene un espesor de 55 μm . Rodeando esta estructura se encuentran fibras musculares circulares y la serosa con un espesor de 2.5 μm (fig. 2D-E).

Intestino medio

Tiene un epitelio monoestratificado con abundantes células cilíndricas de borde estriado con núcleo redondo medial basófilo y citoplasma homogéneo eosinófilo y escasas células calciformes, pequeñas y apicales. La capa mucosa tiene un espesor de 15 μm y la muscular de 2.5 μm (fig. 2F).

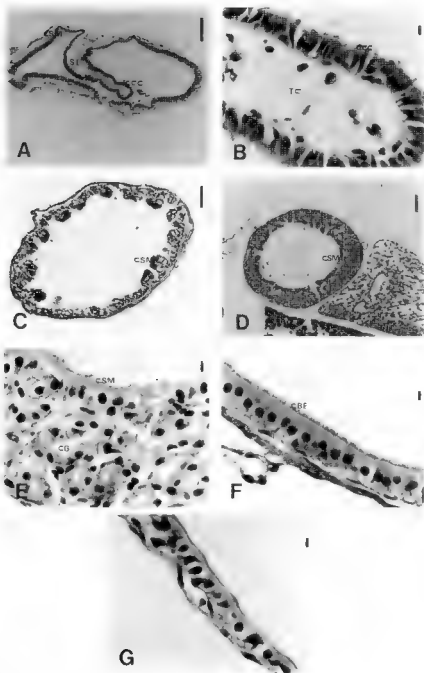


Fig 2. Microfotografías del tubo digestivo en *Dermatonomus muelleri*. (A) Esófago con septo longitudinal. Escala: 100 μ m (B) Septo longitudinal. Escala: 5 μ m (C) Esófago, zona de transición. Escala: 100 μ m (D) Mucocito glandular. Escala: 100 μ m (E) Mucocito glandular. Escala: 5 μ m (F) Intestino medio. Escala: 5 μ m (G) Intestino posterior. Escala: 5 μ m. C.C.a., células calcificadas, C.G., capa glandular; Cr, cripta, C.B.F., células de borde estriado, C.C.C., células ciliadas ciladas, C.S.M., células secretoras de mucus, S.L., septo longitudinal; T.C., tejido conectivo.

Intestino posterior

El epitelio es simple con células cilíndricas de núcleo redondo basófilo y citoplasma poco teñido, de 11 μm de espesor. La submucosa y la capa muscular son muy delgadas, y en total tienen 4 μm de espesor (fig. 2G).

ELACHISTOCLEIS BICOLOR

Descripción anatómica

El tubo digestivo presenta características semejantes a las descritas en *D. muelleri*. La longitud total es algo mayor de seis veces la longitud del cuerpo. El esófago y el manicotto glandulare son porciones cortas del tubo digestivo y representan un 2.25 % y 3.37 % de la longitud total del tubo digestivo, respectivamente. La porción más larga es el intestino medio con un 78.65 % del largo total, al intestino posterior le corresponde un 15.73 % (tab. 1).

Observaciones histológicas

Esófago

Presenta un septo longitudinal en la pared dorsal con un epitelio monoestratificado de células cilíndricas ciliadas y células cilíndricas bajas secretoras de mucus en la base a ambos lados. En la pared ventral las células cilíndricas ciliadas se intercalan con células calciformes. La submucosa forma una capa delgada de tejido conectivo laxo rodeada por una capa muscular muy delgada con fibras circulares (fig. 3A).

La zona posterior tiene pliegues con grupos de células cilíndricas secretoras de mucus en forma de penachos. La capa muscular a este nivel es más gruesa con fibras circulares y externamente fibras longitudinales junto a la capa serosa.

"Manicotto"

La mucosa tiene un epitelio simple con células cilíndricas bajas y escasas células ciliadas, ambos tipos de células están poco diferenciadas, con un espesor de 10 μm . Las glándulas se disponen longitudinalmente con células cúbicas de núcleo redondo basófilo y citoplasma homogéneo con poca afinidad a la eosina, formando una capa gruesa de 113 μm . Las fibras musculares circulares tienen un espesor de 2.5 μm (fig. 3B-C).

Intestino medio

Tiene un epitelio monoestratificado de 16 μm de alto, con abundantes células cilíndricas de borde estriado con núcleo redondo medial basófilo y citoplasma granular levemente eosinófilo y escasas células calciformes. La capa muscular es más gruesa que en otras porciones del tubo digestivo y mide aproximadamente 8 μm de espesor (fig. 3D).

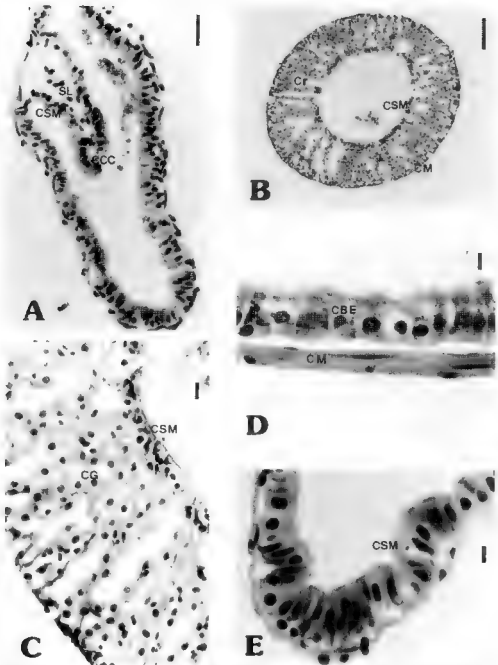


Fig 3 Microfotografías del tubo digestivo en *Elachystocles bicolor* (A) Esofago con septo longitudinal Escala 25 μ m (B) Manicotto glandulare Escala 100 μ m (C) Manicotto glandulare Escala 25 μ m (D) Intestino medio Escala 5 μ m (E) Intestino posterior Escala 5 μ m C G, capa glandular, C M, capa muscular, Cr, cripta, C B E, células de borde estriado; C C C, células cilíndricas ciliadas, C S M, células secretoras de mucus, S L, septo longitudinal

Intestino posterior

El epitelio es simple con células cilíndricas con núcleo redondo basófilo y citoplasma con gránulos eosinófilos, de 17 μm de espesor. Las capas muscular y serosa son muy delgadas, con 5 μm de espesor (fig. 3E).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las dos especies de Microhylidae del Noroeste argentino estudiadas presentan a nivel de tubo digestivo caracteres morfológicos muy semejantes entre sí, coincidiendo con lo observado previamente por ECHEVERRÍA & LAVILLA (2000) con respecto a las estructuras internas de la cavidad oral.

La longitud del tubo digestivo en las larvas de *Dermatonotus muelleri* es de aproximadamente 10 veces la longitud del cuerpo del renacuajo y en *Elachistocleis bicolor* es más corto, representando 6 veces la longitud del cuerpo.

ALTIG & JOHNSTON (1989) clasifican a las larvas de varias especies de Microhylidae como formas que se alimentan de materia en suspensión, hábito que corresponde también para las especies aquí estudiadas. La presencia de todas estas características tanto de la cavidad oral como del tubo digestivo, corroboran el hábito alimenticio suspensívoro en estas especies, siendo de tipo micrófago.

La escasa información disponible en relación con la estructura del tubo digestivo en larvas de Microhylidae neotropicales permite solamente comparar las observaciones realizadas en los géneros *Hypopachus* y *Gastrophryne* (NELSON & CUELLAR, 1968) y específicamente en *Hypopachus aquae* (SAVAGE, 1955), los cuales presentan a nivel del esófago el septo dorsal y en la región gástrica el "manicotto glandulare" (LAMBERTINI, 1929) con características muy semejantes a las observadas en las larvas de *D. muelleri* y *E. bicolor*.

La longitud del esófago en relación con el resto del tubo digestivo es muy corta, hecho que está relacionado con las especies suspensívoras (BARRINGTON, 1946, GRIFFITHS, 1961). También presenta una zona de transición entre el esófago y el manicotto glandulare, característica que comparte con Ranidae y Rhacophoridae (VIRTEL & RICHTER, 1999).

El manicotto glandulare en las larvas de ambas especies presenta estructuras un poco más complejas, en comparación con otras especies suspensívoras que lo presentan, como *Rana ridibunda* (GRIFFITHS, 1961) y *Pleurodema borcklii* (ULLOA & TIRÁN, 1998) entre otras. Las diferencias particularmente radican en la disposición de las glándulas tubulares y la presencia de numerosas criptas que interrumpen la continuidad de la capa epitelial. Estas características también son compartidas con otras especies de Microhylidae (GRIFFITHS, 1961).

El intestino medio es la porción del tubo digestivo más larga y la característica más sobresaliente es la presencia de dos núcleos de enrollamiento. El primero es más pequeño y lateral, el segundo es más grande y ventral. Esta característica no ha sido observada o descrita en formas de Microhylidae americanas (SAVAGE, 1955, NELSON & CUELLAR, 1968), ni en larvas de otras especies de anuros neotropicales (ULLOA KRIBEL, 2001, ULLOA & TIRÁN,

1998; GIMÉNEZ et al., 1991; RADA & BELLO, 1988; JORQUERA et al., 1982), ni en observaciones propias realizadas en larvas de distintas especies de anuros del Noroeste argentino

El intestino posterior es más grueso y corto que el intestino medio, formado por un epitelio simple de células cilíndricas, una capa muscular muy delgada y serosa.

RESUMEN

Se describe la morfología del tubo digestivo en las larvas de dos especies de Microhylidae del Noroeste argentino, *Dermatonotus muelleri* y *Elachistocleis bicolor*. La longitud del tubo digestivo es estándar, con dos núcleos de enrollamiento en el intestino medio. Histológicamente el intestino anterior presenta un pliegue dorsal en el esófago, con numerosas células cilíndricas ciliadas en la mucosa. La región gástrica tiene un "manicotto glandulare" con una espesa capa glandular. El epitelio del intestino medio y posterior es simple con células cilíndricas estriadas en el primero y células cilíndricas y calciformes en el último. Las características anatómicas del enrollamiento del intestino medio no han sido descritas para otras larvas de Microhylidae neotropicales, pero el pliegue dorsal en el esófago es común a otros generos de microhylidos americanos.

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a la Dra. Ernestina S. Teisaire por sus aportes y lectura crítica del trabajo, también por colaborar en la elaboración de las fotografías del material, y a la Dra. Marissa Fabrezi por facilitar parte del material de estudio.

LITERATURA CITADA

- ALTIG, R. & JOHNSTON, G. F., 1986. - Major characteristics of free-living anuran tadpoles. *Smithsonian herp. Inf. Serv.*, **67**, 1-75
- 1989. Glands of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. *Herp. Mon.*, **3**: 81-109
- BARRINGTON, E. J. W., 1946. The delayed development of the stomach in the frog (*Rana temporaria*) and the toad (*Bufo bufo*). *Proc. zool. Soc. London*, **116**, 1-21
- CHU, J. M., 1980. Amphibians of Argentina. *Mont. zool. Ital.*, (n.s.), **Mon.** **2**: 1-609
- ECHIVARRIA, D. D. & LAVILLA, E. O., 2000. Internal oral morphology of tadpoles of *Dermatonotus muelleri* and *Elachistocleis bicolor*. *J. Herp.*, **34**(4): 517-523
- GIMÉNEZ, H., ACTAR, M. & DI MARIN, M., 1991. Histological and length changes of *Bufo arcanium* digestive tube, during normal and induced metamorphosis. *Res. Brasil Biol.*, **51**(1): 53-64
- GOSNER, K. L., 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, **16**: 183-190
- GRADWELL, N., 1974. Description of the tadpole of *Phrynomeris amnectens* and comments on its gill irrigation mechanism. *Herpetologica*, **29**: 84-93.
- GRIFFITHS, I., 1961. - The form and function of the fore-gut in anuran larvae (Amphibia, Salientia) with particular reference to the *manicotto glandulare*. *Proc. zool. Soc. London*, **137**: 249-283

- GUDYNAS, E., 1983. Comentarios sobre anuros (Amphibia) del Uruguay: la expedición Sanborn y breves notas sistemáticas. *Res. Com. Jorn. C. nat.*, Montevideo, **3**: 72-74.
- JORQUERA, B., GARRIDO, O. & PUGIN, E., 1982. Comparative studies of the digestive tract development between *Rhinoderma darwini* and *R. rufum*. *J. Herp.*, **16**: 204-214.
- LAMBERTINI, G., 1928. Il manicotto glandulare di *Rana esculenta*. *Ric. Morphol.*, Roma, **9**: 7.
- LAVILLA, E. O., 1992. The tadpoles of *Dermatonotus muelleri* (Anura: Microhylidae). *Boll. Mus. reg. Sci. nat. Torino*, **10**: 63-71.
- LAVILLA, E. O. & LANGONE, J. A., 1991. Ontogenetic changes in spiracular and proctodeal tube orientation in *Elachistocleis bicolor* (Anura: Microhylidae). *J. Herp.*, **25**: 119-121.
- 1995. Estructura del condrocáneo y esqueleto visceral de larvas de *Elachistocleis bicolor* (Valenciennes, 1838) (Anura: Microhylidae). *Cuad. Herp.*, **9**: 45-49.
- NELSON, C. E. & CUELLAR, H. S., 1968. Anatomical comparison of tadpoles of the genera *Hypopachus* and *Gastrophryne* (Microhylidae). *Copeia*, **1968** (2): 423-424.
- ORTON, G. L., 1953. The systematics of vertebrate larvae. *Syst. Zool.*, **2**: 63-75.
- RADA DE M., D. E. & BELLO DE L., R., 1988. Morfología e histología del sistema digestivo de la larva de *Pseudis paradoxus caribensis* Gallardo, 1961 (Amphibia, Pseudidae). *Iheringia, Sér. Misc.*, Porto Alegre, **2**: 69-91.
- SAVAGE, R. M., 1952. Ecological, physiological and anatomical observations on some species of anuran tadpoles. *Proc. zool. Soc. London*, **122**: 467-514.
- 1955. The ingestive, digestive and respiratory systems of the microhylid tadpole, *Hypopachus aguae*. *Copeia*, **1955** (2): 120-127.
- VILRILLI, B. & RICHTER, S., 1999. Anatomy: viscera and endocrines. In: B. MCDIARMID & R. ALTIG (ed.), *Tadpoles: the biology of anuran larvae*, Chicago, The University of Chicago Press: 92-148.
- ULLOA, Z. & TERAN, H. R., 1998. Cambios anatómicos e histológicos del tubo digestivo en *Pleurodema borelli* (Anura, Leptodactylidae) durante la metamorfosis. *Acta zool. lilloana*, **44**: 57-68.
- ULLOA KRHSFL, Z., 2001. Metamorfosis del aparato digestivo de larvas carnívoras de *Ceratophrys cranwelli* (Anura: Leptodactylidae). *Cuad. Herp.*, **14** (2): 105-116.
- WASSERSUG, R., 1980. Internal oral features of larvae from eight anuran families: functional, systematic, evolutionary and ecological considerations. *Misc. Publ. Mus. nat. Hist. Univ. Kansas*, **68**: 1-146.
- WASSERSUG, R. & PYBURN, W. F., 1987. The biology of pe-ret toad, *Otophryne robusta* (Microhylidae), with special consideration of its fossorial larva and systematic relationships. *Zool. J. Linn. Soc.*, **91**: 137-169.
- WILLIAMS, J. D. & GUDYNAS, E., 1987. Descripción de la larva de *Elachistocleis bicolor* (Valenciennes, 1838) (Anura: Microhylidae). *Amphibia-Reptilia*, **8**: 225-229.

Corresponding editor: Karen R. Lips